

ラット上皮小体の標本作製方法における 出現率の比較検討

加藤友美・橋本明穂・阿部麻紀・出口聡子・重末由紀子・金林智倫

株式会社 バイオ病理研究所

ラット上皮小体の標本作製方法における出現率の比較検討

加藤友美・橋本明穂・阿部麻紀・出口聡子・重末由紀子・金林智倫
株式会社 バイオ病理研究所

【Key words】

ラット、上皮小体、甲状腺、解剖、薄切

1. はじめに

甲状腺・上皮小体は標本作製依頼が多い組織である。同時に上皮小体の出現率も高く求められている組織でもある。これまで本研究会でも上皮小体の標本化についてさまざまな意見が発表され、より確実に標本化できるよう努力しているが、各機関での作製方法の違いなどから、なかなか解決策とまではいかないのが現実である(1)、(2)。今回、弊社において、ラットの GLP 試験および非 GLP 試験の計 205 試験について、作製方法によってどのくらい上皮小体の出現率に差があるのかを調査した。

2. 材料および方法

2.1 ラットの甲状腺・上皮小体

2.2 甲状腺・上皮小体の作製方法 (5 種類)

- 1) 気管から取り外した後、片側のみで作製した場合 (図 1-①)。
- 2) 気管から取り外した後、両側一緒に作製した場合 (図 1-②)。
- 3) 気管から取り外さずに、気管を横断する方向で作製した場合 (図 1-③)。
- 4) 気管から取り外さずに、気管を縦断する方向で作製した場合 (図 1-④)。
- 5) 気管から取り外した後、その他の組織と組み合わせて作製した場合 (図 1-⑤)。

2.3 試験数および算出方法

GLP 試験および非 GLP 試験の計 205 試験 (個体合計数 14767 個)。それぞれの試験数および個数は、1) が 38 試験 (2950 個)、2) が 28 試験 (2312 個)、3) が 96 試験 (5199 個)、4) が 7 試験 (2422 個)、5) が 36 試験 (1884 個) (図 2)。甲状腺・上皮小体の数は左右別々にカウントし、各試験の出現率の算出方法は、出現率 (%) = 出現数 ÷ 個数 × 100 とした。

2.4 甲状腺・上皮小体の作製方法の流れ

切り出し時に個体ごとに実体顕微鏡で、肉眼写真を撮影し、包埋時には、上皮小体の位置をスケッチし、薄切時に未染スライドの状態、光学顕微鏡にて位置を確認しながら作製した (写真 1)。

3. 結果

上皮小体の出現率は①が 93% (2744 個/2950 個)、②が 92% (2128 個/2312 個)、③が 95% (4940 個/5199 個)、④が 98% (2388 個/2422 個)、⑤が 93% (1757 個/1884 個) となり、上皮小体を 100% 標本化するのは難しかった (図 3)。

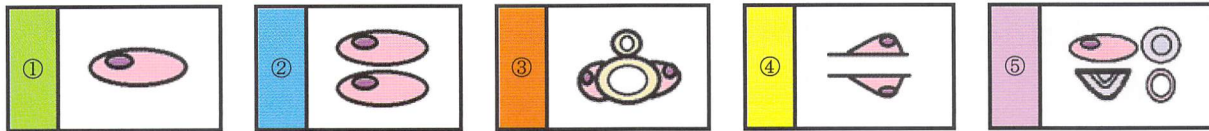
4. 考察

5 種類の作製方法のうち「4) 気管から取り外さずに、気管を縦断する方向で作製した場合」の作製方法が、出現率が一番高かった。その理由として、甲状腺内および甲状腺外にある上皮小体の位置は個体間で差があるため、常に同位置にあるとは限らないからである。このため、横断で作製するよりも縦断で作製する方が、出現率も高くなることが挙げられる。また、解剖時に気管から甲状腺を取り外した場合、解剖者によって、上皮小体を甲状腺から気管周囲にある脂肪組織や筋肉といっしょに取り外してしまうケースがある。解剖時に上皮小体を肉眼状態で確認することはやや困難であることから、固定後の切り出し時や包埋時にすでに上皮小体がないケースが多々認められた。これらのことから、解剖者とその後の標本作製者との密な連携が不可欠であり、また作製方法を変更することで、上皮小体の出現率の向上に繋がることが期待される。

【参考文献】

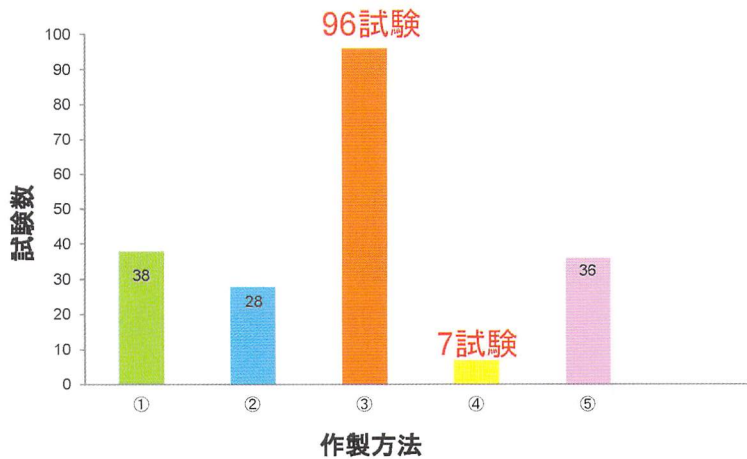
- 1) 島田美千代, 他: 第 19 回技術研修会グループミーティングのまとめ 実験病理技術全般について. 実験病理組織技術研究会誌: 21, 35-43, 2012
- 2) 実験病理組織技術研究会: 実験病理組織標本作製上の Q&A : 33-35, 1985

図 1 : 甲状腺・上皮小体の作製方法 (5 種類)



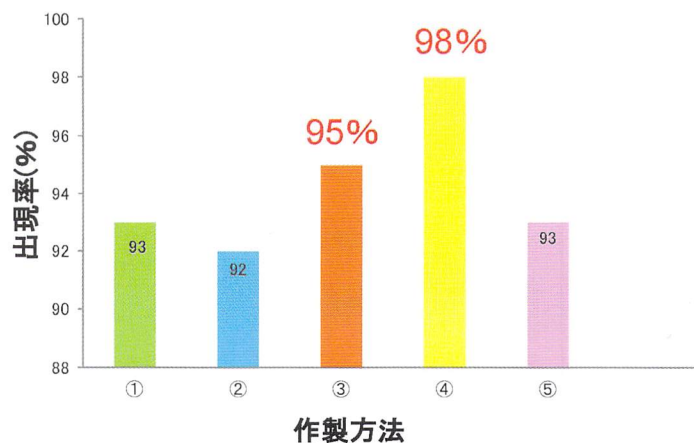
- ①片側のみ作製 (左右別スライド)、②両側作製、③気管を横断して作製、④気管を縦断して作製、⑤その他の組織と組み合わせて作製

図2: 作製方法別における試験数(全205試験)



甲状腺・上皮小体の試験数としては、③気管を横断する方向で作製した場合が 96/205 試験で最も多かった。

図3: 作製方法別における上皮小体出現率

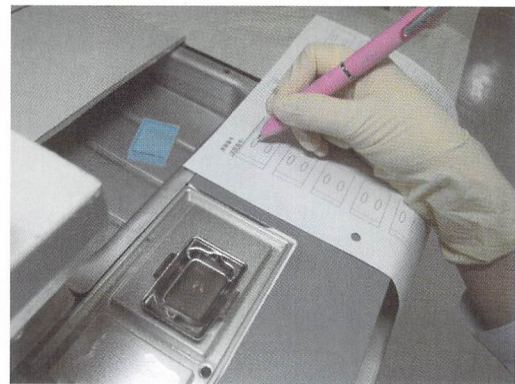


出現率としては、④気管を縦断する方向で作製した場合が 98%で最も高かった。甲状腺に付着している上皮小体の位置が個体によって異なるため、横断では出現しにくい場合があるのに対し、縦断では位置に関係なく出現しやすいため、出現率としては高かった (=両側出現しやすい)。

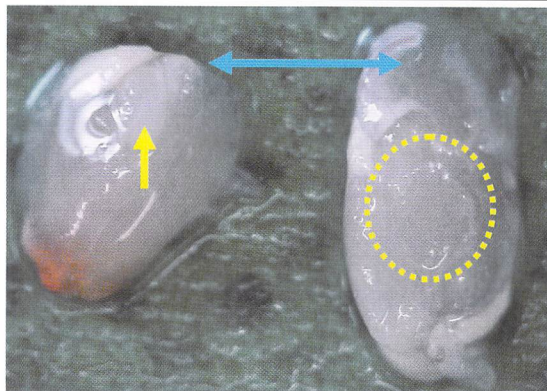
写真 1 : 甲状腺・上皮小体の作製方法の流れ



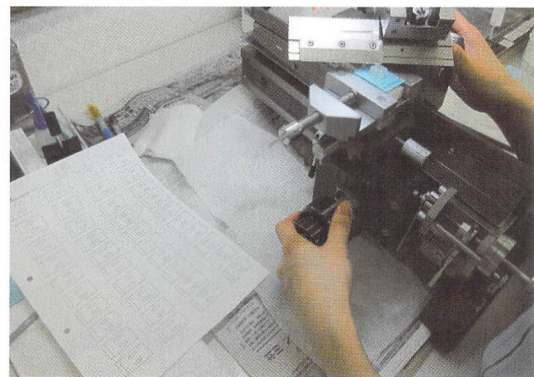
1. 切り出し時に実体顕微鏡にて撮影し、上皮小体のあり、なしの確認と、甲状腺のどの場所に上皮小体があるのかを確認する。



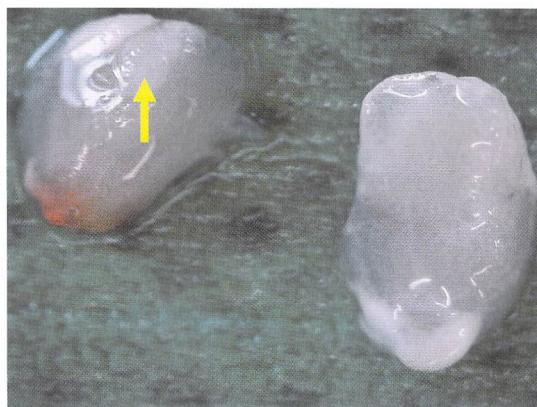
4. 包埋時にも上皮小体の位置についてスケッチを残す。



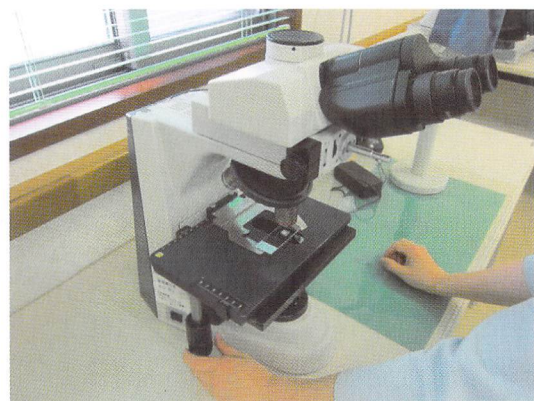
2. 甲状腺（青矢印）・上皮小体（黄色矢印）
左側の上皮小体は、黄色矢印部分に相当するが、右の上皮小体は、相当部位がえぐれてなくなっている（上皮小体が最初からないことを確認＝解剖時に紛失??）。



5. 薄切時に包埋時のスケッチを確認しながら、上皮小体の面出しをする。

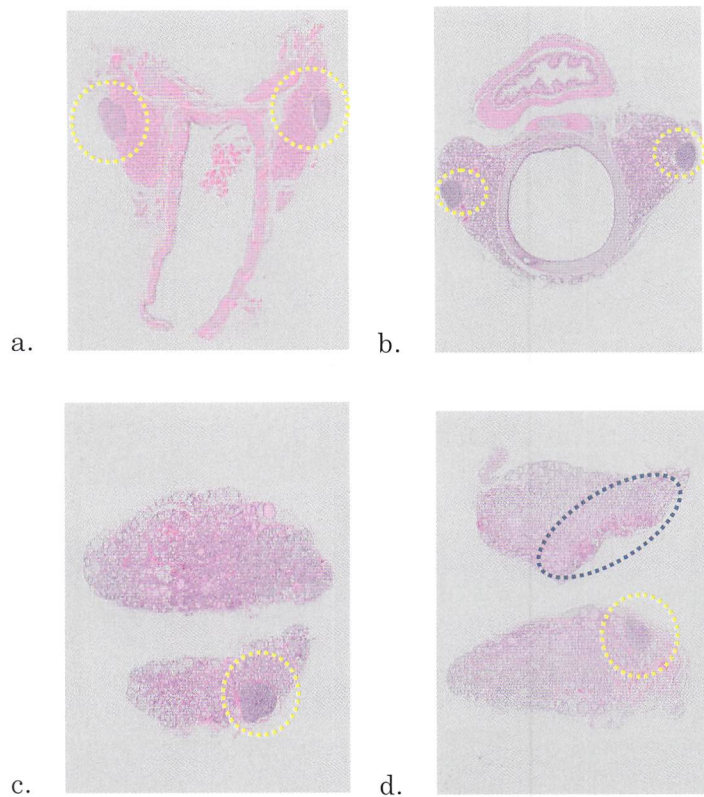


3. 片側の上皮小体が分かりにくい場合、表裏を撮影（2. の右側の甲状腺の裏に相当する）。
※写真左側の甲状腺下部の赤色は左右を区別するためのマーキングの色。



6. 薄切時に光学顕微鏡下にて未染色スライドの状態、上皮小体を確認する。

写真 2：甲状腺・上皮小体の作製方法の違いによる組織像（HE 染色）



- a. 上皮小体の出現率が一番高い作製方法。
気管を縦断する方向で作製（図 1-④）をすると、左右の上皮小体（黄色点線部）の出現率が高い。
- b. 二番目に出現率の高い作製方法。
気管を横断する方向で作製（図 1-③）を行うと上皮小体（黄色点線部）の出現率が高い。
ただし、甲状腺についている上皮小体の位置が左右異なると出現率が低下する。
- c および d. 上皮小体の出現率が最も低かった作製方法。
出現率が低い理由としては、気管から甲状腺・上皮小体を外して、1 ブロックに 2 組織をまとめて作製（図 1-②）するからであり、さらに、甲状腺についている上皮小体（黄色点線部）の位置が、個体によってそれぞれ異なるからである。包埋の方法によっては、薄切者が削り込んでしまい上皮小体がなくなってしまう可能性が考えられる。また、解剖時に気管から甲状腺・上皮小体を取り外す際に、脂肪組織や筋肉といっしょに上皮小体が甲状腺から切り離されてしまい、標本作製時すでに上皮小体が欠落している場合がある（d. 青色点線部）。